pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 3, pp. 271~279 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.3.271

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

단호박을 첨가하여 제조한 막걸리의 품질특성 및 항산화 활성

김지윤[1,2] · 송민규[1,2] · 전은비[1,2] · 박신영[1,2]*
[1]경상국립대학교 해양산업연구소, [2]경상국립대학교 해양식품공학과

Quality Properties and Antioxidant Activities of Korean Traditional Rice-Based Wine, *Makgeolli* Added with Sweet Pumpkin

Ji Yoon Kim[1,2], Eun Bi Jeon[1,2], Min Gyu Song[1,2], Shin Young Park[1,2]*
[1]*Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong, Korea*
[2]*Department of Seafood Science and Technology, Gyeongsang National University, Tongyeong, Korea*

(Received April 13, 2021/Revised May 12, 2021/Accepted June 9, 2021)

ABSTRACT - Sweet pumpkin is rich in minerals such as calcium, phosphorus and fiber, and also contains a large amount of β-carotene, which has antioxidant effects. In this study, *Makgeolli* containing steaming sweet pumpkin (SP) was manufactured to enhance the antioxidant activity. To prepare the *Makgeolli*, SP was added in amounts of 5, 10, 20, and 30% (w/w), and the chemical (pH, total acidity, alcohol), microbiological (lactic acid bacteria, yeast) properties, and antioxidant activities (DPPH, ABTS) were examined during fermentation and storage for 9 days. The pH of SP *Makgeolli* was 4.00-4.23 at day 1 of fermentation, and then the pH gradually decreased as fermentation progressed, showing the lowest results at day 9 (3.28-3.52). At day 1, the total acidity was significantly increased (P<0.05) as the amount of SP (0-30%; 0.09-0.55%) and the total acidity in SP *Makgeolli* (1.01-1.20) was also rapidly increased by 5 days of fermentation. Alcohol content was significantly increased (P<0.05) as the amount of SP (0-30%; 4.59-5.77%) increased at day 9. The counts of lactic acid bacteria and yeast in SP *Makgeolli* were 8.0-8.1 and 7.9-7.8.0 CFU/mL, respectively, which was higher than SP 0% at day 9. DPPH and ABTS radical scavenging activities were significantly increased (P<0.05) as the amount of SP (0-30%; 48.29-78.97% for DPPH, 62.12-86.68% for ABTS) increased at day 9. This study suggests that *Makgeolli* added with SP could be potentially and commercially developed due to its superior microbiological and chemical properties, including high antioxidant activities.

Key words: *Makgeolli*, Sweet pumpkin, Antioxidants, Alcohol, Quality

막걸리는 쌀, 찹쌀, 보리 등의 곡물을 쪄낸 후 물과 함께 누룩 등의 발효균주를 담금하여 만드는 술로써 우리나라의 대표적인 전통발효주이다. 막걸리는 누룩곰팡이의 효소(amylase)에 의한 쌀 전분의 당화공정과, 분해된 당분이 효모에 의해 에탄올(ethanol)로 전환되는 발효공정이 동시에 이루어지는 병행복발효주이다[1]. 막걸리에는 생효모나 유산균 등을 비롯하여 비타민, 식이섬유, 각종 필수 아미노산 및 단백질 등의 영양성분이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며[2,3], 항산화[4,5], 항당뇨[6], 혈압 강하[7] 및 면역 증강[8] 등의 생리활성 효과도 보고되고 있다. 또한 곡물발효로 인한 감칠맛이 있으며 다른 주류에 비하여 풍부한 단백질 함량과 낮은 열량 및 부담 없는 알코올 도수(4-6도)로 소비자의 수요가 꾸준히 유지되어 오고 있다[2]. 막걸리는 이러한 영양 및 기능적 가치를 인정받으면서 최근 웰빙 트렌드의 확산과 한식의 세계화로 인해 이에 부합하는 영향력 있는 주류로써 그 위상이 더욱 높아지고 있는 추세이다. 현재 막걸리에 유자[9], 블루베리[10], 오미자[2], 딸기[3], 흑마늘[11] 및 해조류인 청각[12], 파래[5] 등을 첨가하여 제조한 다양한 기능성 막걸리 연구들이 수행되었으나, 소비자들의 높은 기호도와 영양 및 생리활성 효과에 관한 의문

*Correspondence to: Shin Young Park, Dept. of Seafood Science and Technology, Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea
Tel: +82-55-772-9143, Fax: +82-55-772-9149
E-mail: sypark@gnu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

을 충족시키기 위해서는 더욱 심도 있는 기능성 연구와 함께 품질 및 영양적 측면에서의 다양한 연구가 필요하다.

단호박(*Cucubita* spp.)은 박과에 속하는 서양계 호박으로써, 페루 및 칠레 고랭지의 건조지대가 원산지인 기호성 작물이다[13]. 단호박은 일반 호박보다 크기는 다소 작지만 단맛을 가지며, 각종 비타민류(A, B_1, C)와 칼슘, 인 등의 무기질이 풍부하다[14]. 특히 항산화[15,16] 및 항암[17] 효능을 나타내는 β-carotene의 함량이 다량 함유되어 있어 기능 및 영양적으로 매우 우수한 식품이다. 뿐만 아니라 단호박에 함유된 구성당류와 풍부한 섬유질은 소화 흡습성을 좋게 하며, 저칼로리 식품임에도 포만감 유지에 도움을 주어 건강 및 다이어트 식품으로도 주목받고 있다[18,19]. 단호박은 부재료로써 식혜[13], 식빵[18], 케이크[20], 국수[21], 요구르트[22] 및 등 다양한 식품에 사용되었으며, 이러한 영양기능성을 입증하는 다양한 연구들이 보고되었다. 그러나 단호박이 첨가된 주류에 대해서는 단호박 가루를 사용한 막걸리 연구를[23] 제외하고는 추가, 보완된 연구는 없는 실정이다.

본 연구에서는 단호박을 직접 쪄서 으깬 후 막걸리 제조에 사용하였으며, 단호박의 비율을 달리 혼합하여 주류의 청량감과 함께 단호박 특유의 단맛을 살릴 수 있도록 적절하게 배합하고자 하였다. 이와 함께 항산화 기능이 강화된 단호박 막걸리를 제조하고 이에 따른 이화학적(pH, 총산도 및 알코올), 미생물학적(유산균수 및 효모수) 및 항산화 활성(DPPH 및 ABTS 소거활성능) 분석을 진행하여 소비자의 기호성을 증대시킬 수 있는 건강주류로써의 가능성 및 실용성에 대한 연구를 진행하고자 하였다.

Materials and Methods

실험재료

본 실험에 사용된 막걸리 제조용 쌀은 시중에서 판매중인 일반 백미를 구입하여 사용하였고, 발효 균주인 누룩은 국내산 밀로 만든 소율곡(300 sp 이상, Songhag-gogja, Gwangju, Korea) 제품을 사용하였다. 단호박은 인터넷에서 판매중인 제품을 구입하였고, 껍질 제거 후 손질된 진공포장 제품을 사용하였다. 수령 후 냉장보관(4°C)하며 실험시에 사용하였다.

단호박을 첨가한 막걸리의 담금

단호박을 첨가한 막걸리의 제조공정 및 배합비율은 Fig. 1에 나타낸 바와 같다. 막걸리 제조를 위해 쌀을 깨끗이 씻어 약 12시간 정도 물에 불린 후 체에 받쳐 3시간 동안 물기를 제거하였으며, 물기가 제거된 쌀을 찜통에서 50분간 증자 후 뜸을 들이는 과정을 거쳐 고두밥을 만들었고 냉각시킨 후 사용하였다.

단호박은 껍질만 제거된 원물상태의 것을 구입하였으며,

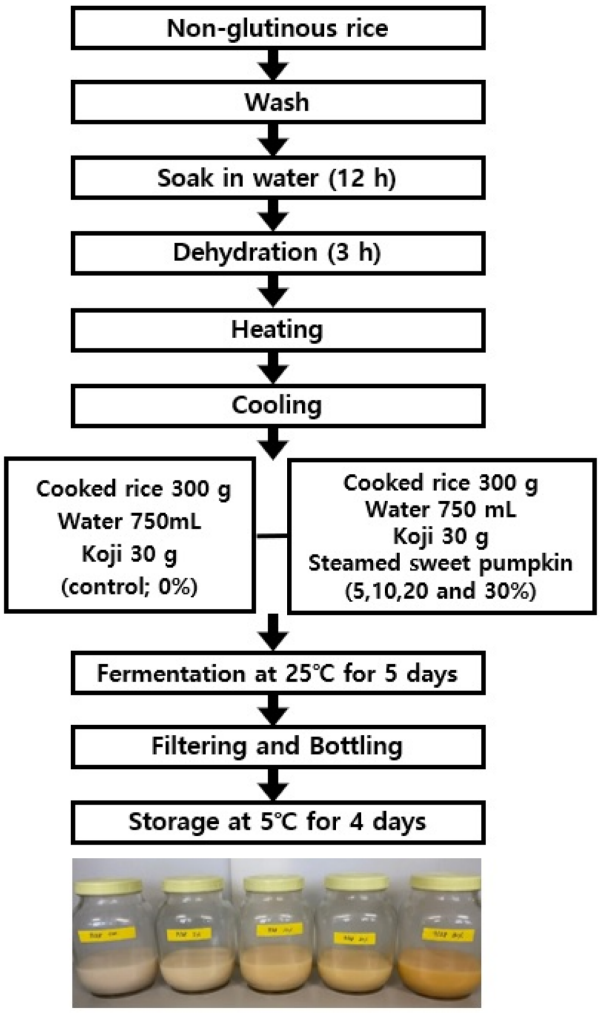

Fig. 1. A flow diagram for the preparation of *Makgeolli* containing sweet pumpkin.

찜통에서 약 30분간 쪄낸 후 깨끗하게 세척된 스테인리스 볼에서 주걱과 숟가락을 이용해 완전히 으깨어 실험에 사용하였다. 단호박 막걸리 제조의 경우, 멸균된 유리병에 고두밥 400 g, 누룩 40 g 및 물 800 mL와 함께 쌀 중량에 대비하여 단호박 5, 10, 20 및 30% (w/v%)를 첨가하여 잘 섞은 후 발효하였으며, 대조군인 쌀 막걸리는 단호박 첨가 과정을 제외하고 이와 동일하게 제조하였다. 제조된 각각의 막걸리는 품온을 25±1°C를 유지시키며 5일동안 발효하였고, 발효 후 면보로 여과하여 4일간 냉장보관(5°C 이하) 하며 실험에 사용하였다. 발효 및 저장기간 동안 막걸리의 이화학적, 미생물학적 및 항산화 활성을 평가하였다.

pH 및 총산도의 측정

pH 측정을 위해 막걸리 시료 20 mL를 여과하여 사용하였으며, pH meter (Orion Star A211, Thermo Scientific,

Miami, FL, USA)로 측정하였다. 총산도는 시료 10 mL에 증류수를 90 mL를 넣어 희석하였으며, 희석된 시료액 20 mL를 삼각 플라스크에 채취하여 1% phenolphthalein을 지시약으로 2-3방울 떨어뜨린 후, 0.1 N NaOH 적정용액으로 미홍색이 나타날 때까지 적정하였다. 소비된 양을 아래의 Lactic acid 함량식(%)으로 계산하여 결과를 나타냈으며, pH와 총산도 결과는 각각 3회 반복측정 후 평균값으로 도출하였다.

$$\text{총산도 (\%)} = \frac{0.009 \times \text{NaOH소비량(mL)} \times \text{NaOH역가} \times \text{희석배수}}{\text{시료의 부피(mL)}} \times 100$$

알코올의 측정

알코올 함량은 국세청주류면허지원센터(National Tax Service Liquor License Support Center)의 주류분석규정 중 알코올분 시험법에 따라 발효 0일차부터 2, 4, 6, 8일차에 각각 알코올 함량을 측정하였다. 시료 100 mL를 취하여 증류용 플라스크에 옮긴 후 증류 장치를 이용하여 알코올을 증류하였다. 증류액이 70 mL가 되었을 때 증류를 중지하고 증류수를 보충하여 100 mL까지 정용한 후 15°C에서 주정계(Hydrometer, Dongmyeong, Seoul, Korea)로 측정하였으며 0.1도 당 알코올 온도환산표를 통해 정확한 알코올 값을 도출하였다. 알코올은 실험이 종료된 9일차에 최종 측정하였으며, 측정 결과는 각각 3회 반복측정 후 평균값으로 도출하였다.

유산균 및 효모수의 측정

유산균 및 효모의 측정을 위해 식품공전에서 고시한 시험법[24]과 동일한 방법으로 진행하였다. 시료용액을 제조하기 위해 시료 1 mL와 멸균 생리 식염수 9 mL를 10진 희석법에 따라 희석하여 그 시료액을 실험에 사용하였다. 유산균수는 희석된 시료액 1 mL와 Lactobacillus MRS (Difco Co., Detroit, MI, USA)를 Petri Dish에 분주 후 균일하게 혼합하여 37°C에서 48-72(±2)시간 배양하였다. 효모수는 위의 실험법과 동일하게 진행하였으며, 희석된 시료액 1 mL와 Potato Dextrose Agar (Difco Co., Detroit, MI, USA)를 Petri Dish에 분주 후 균일하게 혼합하여 25°C에서 5-7일간 배양한 후 Petri Dish에 나타난 전형적인 집락을 계수하였다. 배양 후 플레이트 당 15-300 CFU/g의 유효 콜로니가 생성된 것만을 선택하여 계산하였으며, 각 미생물 집락의 단위는 시료 1 mL당 Colony Forming Unit (CFU/mL)으로 표시하였다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성능의 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성의 측정을 위해 Kang 등[25]의 연구를 참조하여 실험을 진행하였다. DPPH 시험용액은 1.5×10^{-4} DPPH 시약(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 에탄올을 혼합하여 제조하였다. 막걸리 시료를 원심분리한 후(2,700 rpm, 3 min; High speed Centrifuge, Supra 22K, HANIL, Korea) 막걸리 시료의 상등액과 DPPH 용액을 각각 200 μL씩 1:1로 하여 혼합하였으며, 분광광도계(Spectroic 2D, Thermo Electron Co., Miami, FL, USA)를 사용하여 517 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 단호박 무첨가군인 대조군과 단호박 첨가군의 흡광도를 구하여 아래와 같이 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성(\%)} = \frac{A_{517}\text{ of control} - A_{517}\text{ of sample}}{A_{517}\text{ of control}} \times 100$$

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium) (ABTS) 라디칼 소거 활성능의 측정을 위해 Jeong 등[26]의 연구를 참조하여 실험을 진행하였다. ABTS 시약(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 Potassium persulfate (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 시약을 증류수와 혼합하여 냉장고에서 약 12시간 정도 방치하여 ABTS cation radical ($ABTS^{+}$)을 형성시킨 후 1.5-1.6 nm의 흡광도를 가지는 농도로 희석하여 용액을 제조하였다. 이 용액과 원심분리한 막걸리 시료의 상등액을 각각 200 μL씩 1:1로 혼합한 후 분광광도계를 사용하여 415 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조구 실험은 단호박 무첨가군인 대조군 시료로 측정하였으며 아래와 같이 백분율(%)로 표시하여 나타내었다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거 활성(\%)} = \frac{A_{415}\text{ of control} - A_{734}\text{ of sample}}{A_{415}\text{ of control}} \times 100$$

통계분석

실험 결과의 통계 처리는 모든 실험에 대해 각 시료당 3회 반복을 통하여 얻은 평균값과 표준편차를 이용하여 진행하였으며, 대조군 쌀막걸리와 단호박 첨가 막걸리의 이화학, 미생물학적 및 항산화 활성 분석결과 간의 유의차를 확인하기 위해 실시하였다. 통계 프로그램은 SPSS version 12.0 software program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였으며, 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 후 Duncan's 다중범위검정(multiple range test)으로 유의성 차를 5% ($P<0.05$) 수준에서 검증하였다.

Results and Discussion

pH 및 총산도의 변화

단호박 막걸리의 발효 및 저장기간 중 pH 측정결과는 Table 1과 같다. 발효 및 저장기간이 길어질수록 pH가 점차 감소됨을 확인하였으며, 모든 실험군에서 변화 수준이 대체적으로 유사한 양상을 나타냈다. 발효 1일차에는 단

Table 1. Change of pH value and total acidity in *Makgeolli* containing sweet pumpkin during 9-days of fermentation and cold storage

Sweet pumpkin		Fermentation (day)			Cold storage (day)	
		1	3	5	7	9
pH	0%	3.97±0.06^{aB}	3.40±0.00^{bC}	3.34±0.00^{bB}	3.30±0.00^{cA}	3.27±0.06^{cC}
	5%	4.00±0.10^{aB}	3.47±0.06^{bB}	3.37±0.06^{bcB}	3.33±0.06^{cA}	3.28±0.00^{cC}
	10%	4.03±0.06^{aB}	3.50±0.00^{bB}	3.40±0.00^{cB}	3.33±0.06^{cA}	3.33±0.06^{cBC}
	20%	4.07±0.06^{aB}	3.60±0.00^{bA}	3.52±0.00^{bA}	3.43±0.06^{cA}	3.40±0.00^{cB}
	30%	4.23±0.06^{aA}	3.63±0.06^{bA}	3.59±0.06^{bA}	3.57±0.06^{bcA}	3.52±0.06^{cA}
Total acidity (%)	0%	0.09±0.06^{cC}	0.78±0.03^{bB}	1.01±0.03^{aC}	1.07±0.09^{aB}	1.11±0.03^{aD}
	5%	0.09±0.10^{dC}	0.81±0.00^{cAB}	1.02±0.03^{bC}	1.08±0.07^{bB}	1.16±0.03^{aC}
	10%	0.23±0.06^{eB}	0.81±0.00^{dAB}	1.02±0.01^{cC}	1.11±0.05^{bB}	1.22±0.03^{aB}
	20%	0.51±0.06^{dA}	0.83±0.03^{cAB}	1.07±0.01^{bB}	1.14±0.05^{bB}	1.25±0.03^{aAB}
	30%	0.55±0.06^{dA}	0.86±0.06^{cA}	1.20±0.03^{bA}	1.26±0.05^{bA}	1.32±0.03^{aA}

Zero percent means Makgeolli without addition of pumpkin. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (a-d) and a column (A-C) are significant differences (P<0.05).

호박 0-20% 첨가군 막걸리와(3.97-4.07) 30% 첨가군(4.23) 사이에서 유의적인 차이를 보였으며(P<0.05), 발효 3일차에는 모든 실험군에서 급격한 감소가 관찰되었다(3.40-3.63). 발효 5일차에는 모든 실험군에서 pH가 감소되었지만, 단호박 10% 첨가군을 제외한 0% 및 나머지 첨가군에서는 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). 저장기간인 7, 9일차 또한 마찬가지로 모든 실험군에서 pH의 수치적인 감소가 조금 있었지만, 유의적인 차이는 보이지 않았다(P>0.05). 9일차의 최종 pH는 0%가 3.27 및 단호박 5-30% 첨가군에서 각각 3.28, 3.33, 3.40 및 3.52 로써, 단호박 함량이 많을수록 pH가 높아지는 결과를 나타냈으며 발효 직후 이후에는 현저한 pH의 변화는 관찰되지 않았다. 막걸리 발효 중 pH 변화는 일반적으로 초기(1-3일)에 급격히 감소하였다가 발효가 진행됨에 따라 점차 완만한 감소 형태를 보이며[23,27], 그 이유는 발효가 가장 활발한 초기에 유기산의 생성이 증가하여 pH 변화에 영향을 끼치기 때문인 것으로 보고되어 있다[10,12,27,28]. pH는 발효주인 막걸리의 발효 진행 및 품질 상태를 예측할 수 있는 지표로써, 그 변화는 발효 중 생성되는 유기산, 알코올, 아미노산 등 여러 성분들에 의해 영향을 받는다[29]. 일반적으로 발효 완료 시 막걸리의 pH는 약 3-4이며, 산성 조건에 내성을 보이는 다양한 종류의 유산균들과 효모가 다량 함유되어 있다[6].

단호박 막걸리의 발효 및 저장기간 중 총산도 측정결과는 Table 1에 나타낸 바와 같다. 발효 및 저장기간에 따라 총산도가 점차 증가하여 pH의 변화 양상과는 반비례의 결과를 보였다. 발효 1일차의 대조군(0%) 및 단호박 5% 첨가군은 0.09였으며, 단호박 10, 20 및 30% 첨가군이 각각 0.23, 0.51 및 0.55%로 나타났다. 단호박의 함량이 늘어남에 따라 총산도의 함량이 높아지는 경향을 보였으며, 발효 및 저장기간에 따라 유의적으로 증가하였다(P<0.05). 3일 및 5일차에는 단호박 5%와 10% 첨가군의 총산도 결과가 같았으며(0.81-1.02), 5일차에는 1.01-1.20 및 9일차에는 최종 1.11-1.32의 결과로 측정되었다. 총산도의 경우 발효 초기(1-3일)에 급격하게 증가하고, 후반으로 갈수록 완만한 증가형태를 보여 pH와 반대되는 양상을 나타냈다. 이는 Jeon 등[10], Choi 등[30] 및 Cho의[31] 결과와 유사하였다. 총산도의 함량은 막걸리의 향미 및 보존성과 관련되는 중요한 지표성분 중의 하나이다. 막걸리의 발효가 진행됨에 따라 유산균, 효모 등으로 인해 유기산이 다량 생성되어, 이로 인해 총산도의 값에 변화가 나타나며[27], 생성된 유기산이 알코올과 반응하여 ester 등의 향미성분의 형성에 이용되므로 발효 후기에는 총산도의 증가 속도가 점차 감소되는 경향을 보인다[32].

알코올 함량의 측정

알코올은 막걸리의 관능적인 부분에 있어 소비자의 미각 및 후각에 직접적으로 영향을 끼칠 수 있는 항목으로써, 실험이 종료된 9일차의 단호박 막걸리의 알코올 함량을 측정하였다. 9일차 단호박 막걸리의 알코올 함량의 변화는 Fig. 2와 같다. 알코올 함량은 단호박 첨가 함량이 증가할수록 유의적으로 증가하여(P<0.05) 단호박 5-30% 첨가군이 각각 5.20, 5.37, 5.61 및 5.77의 결과를 보였다. 발효기간 중 알코올 함량은 3일차까지는 알코올이 생성되지 않았으며, 5일차부터 서서히 생성되며 증가하기 시작하였다(data not shown). Kim 등[27], Choi 등[30] 및 Kim 등[32]의 막걸리 연구에서는 9일차에서 모두 알코올 함량이 10% 이상의 결과를 보여 본 연구의 9일차 알코올 함량 결과와는 차이가 있었다. 그러나 본 연구의 경우 발효 5일차에 막걸리 여과공정 진행 후 9일차까지 냉장 저장하며 실험을 진행하였으며, 이에 알코올을 생성을 위한 효모 등의

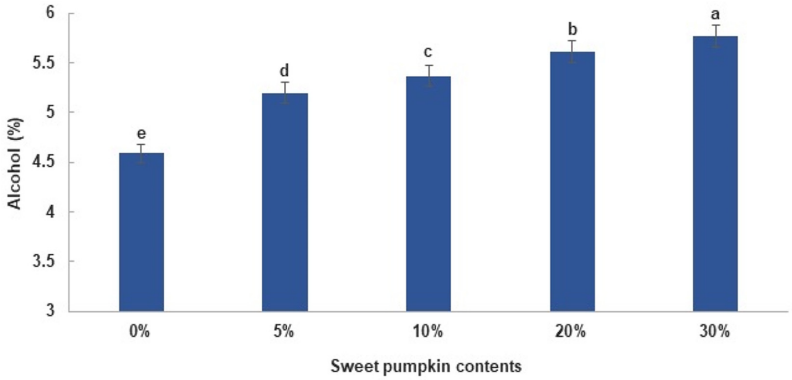

Fig. 2. Changes of alcohol contents of *Makgeolli* containing sweet pumpkin at 9-day. Error bars (a-e) represent the standard deviations for the mean of three samples (three samples/treatment).

기질성분이 감소하여 저장기간인 9일차에도 알코올 함량이 높지 않았을 것으로 예상된다. 시판 중인 막걸리의 도수는 4-6% 정도이며, 따라서 이와 유사한 결과를 보인 본 단호박 첨가 막걸리의 알코올 도수는 적절한 것으로 판단된다. 일반적으로 알코올 발효는 에탄올과 이산화탄소(CO_2)로 분해된 상태로써, 직접적인 실험 없이도 기포 발생의 유무로 알코올의 생성 및 증가를 알 수 있으며[29], 주류에서의 알코올 함량은 막걸리의 품질을 결정하고, 보존성과 향미에 영향을 주는 주요 성분이다[34].

유산균 및 효모수의 변화

단호박 막걸리의 발효 및 저장 기간 중 유산균수의 변화는 Table 2와 같다. 발효 1일차의 단호박 무첨가군인 쌀막걸리의 경우 7.1 log CFU/mL, 단호박 5, 10, 20 및 30% 첨가 막걸리는 각각 7.3, 7.4, 7.4 및 7.5 log CFU/mL였으며, 0%-5% 및 10-30% 첨가군 사이에서 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). 발효 3일차에는 단호박 0-30% 첨가군에서 8.6-8.9 log CFU/mL로 유산균수가 급격하게 증가하였다. 그러나 5일차 및 7일차에는 각각 7.99-8.23 및 7.9-8.0 log CFU/mL로 다소 감소하는 양상을 보였으며, 모든 시료 간엔 유의차는 없었다(P>0.05). 발효 9일차의 최종 유산균수는 대조군(0%)이 7.9 log CFU/mL, 단호박 5-30% 첨가 막걸리에서는 각각 8.0, 8.0, 8.1 및 8.1 log CFU/mL로 유사하였으며 시료 간의 유의차 또한 없었다(P>0.05). 발효 초기(1-3일)에 유산균수가 증가하였다가 발효가 진행될수록 점차 감소하는 경향은 Kim 등[35] 및 Kim 등[36]의 연구결과와 유사하였다. 이는 발효 초기 누룩으로부터 유래된 젖산균의 생육으로 인하여 환경이 산성화됨과 동시에[35], 단호박에 다량 함유된 식이섬유가 유산균의 먹이 역할을 하여 유산균의 증식과 감소에 영향을 끼쳤을 것으로 예상된다[19]. 유산균은 장내 유해 세균의 증식을 억제하며, 인체 내의 면역력을 강화시키는 것으로 알려져 있다[37]. 최근에는 막

Table 2. Changes of lactic acid bacteria and yeast cell counts (log CFU/mL) in *Makgeolli* added with sweet pumpkin during 9-days of fermentation and cold storage

Sweet pumpkin		Fermentation (day)			Cold storage (day)	
		1	3	5	7	9
Lactic acid bacteria (log CFU/mL)	0%	7.1 ± 0.2^{bB}	8.6 ± 0.1^{bA}	8.1 ± 0.1^{bA}	7.9 ± 0.1^{bA}	7.9 ± 0.3^{aA}
	5%	7.3 ± 0.1^{cB}	8.6 ± 0.2^{aA}	8.2 ± 0.1^{bA}	8.0 ± 0.1^{bA}	8.0 ± 0.1^{bA}
	10%	7.4 ± 0.1^{cA}	8.8 ± 0.2^{aA}	8.0 ± 0.2^{bA}	7.9 ± 0.2^{bA}	8.0 ± 0.3^{bA}
	20%	7.4 ± 0.1^{cA}	8.8 ± 0.0^{aA}	8.1 ± 0.1^{bA}	8.1 ± 0.1^{bA}	8.1 ± 0.1^{bA}
	30%	7.5 ± 0.1^{cA}	8.9 ± 0.2^{aA}	8.2 ± 0.1^{bA}	8.0 ± 0.1^{bA}	8.1 ± 0.2^{bA}
Yeast (log CFU/mL)	0%	6.3 ± 0.1^{cA}	7.4 ± 0.0^{bA}	7.6 ± 0.2^{aA}	7.1 ± 0.1^{bC}	7.7 ± 0.1^{aC}
	5%	6.0 ± 0.3^{cA}	7.3 ± 0.1^{bA}	7.7 ± 0.1^{aA}	7.2 ± 0.1^{bC}	7.9 ± 0.0^{aB}
	10%	6.2 ± 0.2^{cA}	7.4 ± 0.1^{bA}	7.7 ± 0.2^{abA}	7.4 ± 0.2^{bB}	7.9 ± 0.2^{aB}
	20%	6.3 ± 0.1^{cA}	7.5 ± 0.1^{bA}	7.8 ± 0.1^{abA}	7.5 ± 0.1^{bB}	7.8 ± 0.1^{aB}
	30%	6.4 ± 0.1^{dA}	7.5 ± 0.1^{cA}	7.8 ± 0.1^{bA}	7.8 ± 0.1^{bA}	8.0 ± 0.1^{aA}

Zero percent means Makgeolli without addition of pumpkin. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. Different superscripts in a row (a-d) and a column (A-C) are significant differences (P<0.05).

걸리에도 유산균이 다량으로 존재한다는 보고가 잇따르고 있어 막걸리에 대한 관심이 점차 높아지고 있는 추세이다.

단호박 막걸리의 발효 및 저장 기간 중 효모수의 변화를 Table 2에 나타내었다. 발효 직후 1일차의 단호박 무첨가군인 쌀막걸리(0%)는 6.3 log CFU/mL, 단호박 5, 10, 20 및 30% 첨가군에서는 각각 6.0, 6.2, 6.3 및 6.4 log CFU/mL으로 모든 실험군에서 유의적인 차이가 없었다 (P>0.05). 발효 3일차 및 5일차에는 각각 7.3-7.5 log CFU/mL 및 7.6-7.8 log CFU/mL로 발효가 진행될수록 모든 실험군에서 효모수가 점차 증가하였으나 모든 시료 간에 유의차는 보이지 않았으며(P>0.05), 그와 동시에 5일차부터는 단호박 첨가량이 늘어날수록 효모수가 증가하는 경향을 보였다. 발효 7일차에는 단호박 0-30% 첨가군에서 7.1-7.8 log CFU/mL로 나타나 30% 첨가군을 제외한 나머지 실험군에서는 효모수가 감소하였으며, 최종 9일차에는 다소 증가하여 0%에서 7.7 log CFU/mL, 단호박 5-30% 첨가군에서 7.9-8.0으로 측정되었다. Kim 등[35]의 흑미 첨가 막걸리 연구에서는 발효 초기(1-3일) 효모수가 점차 증가하였다가 5일차부터는 다소 감소하는 결과를 보였으며, Kim 등[38]의 연구에서도 발효 초기 효모수가 급격하게 증가하였다가 4일차부터는 그 수가 감소하여, 본 연구의 효모수 변화 양상과 유사한 결과를 보였다.

DPPH 및 ABTS의 라디칼 소거 활성능

DPPH 라디칼은 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로써, 활성능 측정법 중 가장 일반적으로 사용되는 방법이다. DPPH는 ascorbic acid, tocopherol 및 방향족 아민류 등의 항산화물질에 의해 수소 및 전자를 받아 환원됨으로써 본래의 짙은 자색이 탈색되며, 이러한 원리를 이용해 항산화물질의 전자공여능을 측정한다[39,40]. 항산화 작용은 식품 중의 지방 산화를 억제하고, 인체 내 노화 및 질병을 방지하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[39]. 단호박 첨가 막걸리의 DPPH 라디칼 소거활성능의 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 단호박 무첨가군의 경우(0%) 48.29%로 가장 낮았으며 단호박 5, 10, 20 및 30% 첨가 막걸리에서 각각 58.03, 66.45, 74.57 및 78.97%로 측정되었다. 단호박 30% 첨가군의 경우 단호박 무첨가군에 비하여 DPPH 소거능이 약 30% 높아진 결과를 보여 단호박 첨가 함량이 늘어날수록 항산화 활성 또한 비례하여 증가하는 것을 확인하였다(P<0.05). Lee 등[11]의 흑마늘 막걸리 연구에서는 흑마늘 첨가량이 늘어날수록−DPPH 소거활성 결과가 증가하였으며, Kim 등[5]의 가시파래 막걸리 연구에서도 가시파래의 함량이 늘어날수록 DPPH 소거활성능이 높아지는 결과를 보이는 등 항산화 기능이 강화된 막걸리의 연구가 활발하게 진행되고 있다. 특히 본 연구의 DPPH 라디칼 소거능 결과는 기존의 두 연구보다 높은 항산화 활성수치로 나타났다. 단호박은 항산화력이 뛰어난 β-carotene, polyphenol 및 flavonoids류 등이 풍부한 식품으로 알려져 있으며[15,21] 본 연구의 DPPH 라디칼 소거능 실험 결과, 단호박이 첨가된 막걸리의 항산화 효능이 확인되었다.

일반적으로 항산화 활성을 나타내는 기작은 이와 관련된 물질이 인체 내의 노화 및 세포 손상으로 인한 질병의 원인이 되는 자유라디칼(free radical)을 소거하는 것이다. ABTS radical 소거 활성능의 측정은 Potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 시료 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 청록색이 탈색되는 원리를 이용하는 방법이다[42]. 단호박 첨가 막걸리의 ABTS 라디칼 소거 활성능의 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 단호박 무첨가군인 쌀막걸리는 62.12% 였으며, 단호박 5, 10, 20 및 30% 첨가 막걸리에서 각각 75.79, 77.59, 82.65 및 86.68%로 측정되어, DPPH 활성능 결과와 마찬가지로 단호박 첨가량이 늘어날수록 ABTS 라디칼 소거능이 유의적으로 증가하는 결과를 보였다(P<0.05). Wu 등[43]의 연구에서는 일반 쌀스낵(21.19-51.12)에 비해 단호박을

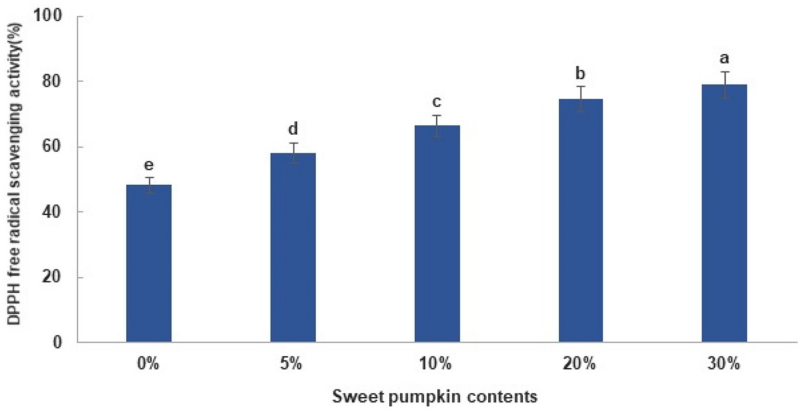

Fig. 3. DPPH free radical scavenging activity of *Makgeolli* containing sweet pumpkin at 9-day. DPPH; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Error bars (a-e) represent the standard deviations for the mean of three samples (three samples/treatment).

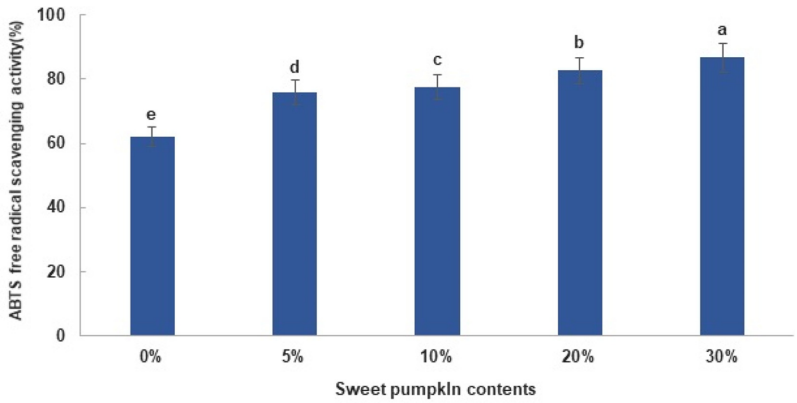

Fig. 4. ABTS free radical scavenging activity of *Makgeolli* added with sweet pumpkin at 9-day. ABTS; 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium). Error bars (a-e) represent the standard deviations for the mean of three samples (three samples/treatment).

첨가한 쌀스낵(60.09-89.03)에서 높은 ABTS 소거능 결과를 보여 단호박의 항산화 효능을 확인하였으며, 본 연구의 ABTS 결과(75.79-86.68%)와 유사하였다. 따라서 이러한 결과들은 본 연구의 목적인 항산화 효능을 지닌 단호박 막걸리의 개발 가능성 타진에 부응하는 결과로 보여진다.

국문요약

본 연구에서는 항산화 효능과 관능적 특성이 강화된 막걸리 제조를 위해 통단호박을 직접 찐 후 비율별로 첨가하여 막걸리를 제조하였다. 단호박 막걸리 제조를 위해 단호박을 쌀 중량의 5%, 10%, 20% 및 30%를 첨가하였으며 발효 및 담금 후 9일간 단호박 막걸리의 이화학적(pH, 총산 및 알코올), 미생물학적(유산균 및 효모수) 및 항산화 활성을 조사하였다. pH의 경우 모든 실험군에서 발효 및 저장기간이 늘어날수록 점차 낮아졌으며 9일차에는 단호박 무첨가군인 대조군(3.27)에 비해 단호박 첨가군(3.28-3.52)이 다소 높은 결과를 보였다. 총산도는 1일차(0.09-0.55) 및 3일차(0.81-0.86)에 급격히 증가하였으며, 그 후 서서히 증가하여 9일차에는 단호박 첨가군에서 1.16-1.32의 결과를 보였다. 알코올 함량은 9일차에 대조군 0%가 4.59로 가장 낮았고 단호박 5-30% 첨가군에서 5.20-5.77%로 단호박 첨가량이 많아질수록 알코올 함량이 높았다. 유산균수 측정의 경우 발효초반에 증가하는 양상을 보이다가 5일차부터 다소 감소하거나 유사하여 9일차에는 단호박 첨가 0-30% 첨가군에서 7.95-8.09 log CFU/g로 나타났으며, 효모수의 경우 발효가 진행될수록 증가와 감소를 다소 반복하였으며 9일차에는 7.68-7.99 log CFU/g으로 측정되었다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 단호박 30% 첨가군에서 85.96 및 78.97%로 각각 측정되어 단호박 무첨가군의 DPPH (48.29%) 및 ABTS (62.12%) 결과와 비교 시 높은 항산화 활성도를 보였다. 따라서 추후 단호박 첨가에 따른 각종 비타민류, 무기질 및 β-carotene 등의 영양·기능성 성분의 분석과 더불어 소비자의 관능평가 등을 통해 항산화 기능이 강화된 단호박 막걸리의 실용화를 위한 구체적인 연구개발의 확대가 필요할 것으로 사료된다.

Conflict of interest

To the best of our knowledge, the named authors (Kim Ji Yoon, Jeon Eun Bi, Song Min Gyu and Park Shin Young) have no conflict of financial and non-financial interest. There are no other relationships or activities that could appear to have influenced submitted work.

ORCID

Ji Yoon Kim https://orcid.org/0000-0002-5647-6994
Eun Bi Jeon https://orcid.org/0000-0002-1117-0764
Min Gyu Song https://orcid.org/0000-0003-3945-0730
Shin Young Park https://orcid.org/0000-0001-7984-2697

References

1. Kim, B.H., Eun, J.B., Physicochemical and sensory characteristics of *Makgeolli* with pomegranate (*Punica granatum L.*) juice concentrate added. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 417-421 (2012).
2. Song, Y.R., Lim, B.U., Song, G.S., Baik, S.H., Quality characteristics and antioxidant activity of *Makgeolli* supplemented with Omija Berries (*Schizandra chinensis* Baillon). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **47**, 328-335 (2015).
3. Bae, S.M., Han, S.M., Choi, J.M., Lee, J.S., Kim, H.K., Man-

ufacturing of Korean traditional rice wine, *Makgeolli*, supplemented with strawberry and its physicochemical and microbial properties during fermentation. *Korean J. Mycol*., **44**, 307-313 (2016).
4. Jeong, J.W., Nam, P.W., Lee, S.J., Lee, K.G., Antioxidant activities of Korean rice wine concentrates. *J. Agric. Food Chem*., **59**, 7039-7044 (2011).
5. Kim, J.Y., Jeon, E.B., Choi, M.S., Park, S.Y., Effect of *Enteromorpha prolifera* on quality characteristics and antioxidants activities of the *Makgeolli* (Korean traditional rice-based wine). *Korean J. Fish. Aquat. Sci*., **53**, 231-236 (2020).
6. Lee, H.S., Hong, K.H., Yoon, C.H., Kim, J.M., Kim, S.M., Effect of Korean turbid rice wine (takju) lees extract on blood glucose in the db/db mouse. *Korean J. Food Culture*, **24**, 219-223 (2009).
7. Ko, Y.J., Kang, S.D., Kang, S.T., Rye, C.H., Quality properties and anti-allergic effect of *Makgeolli* added with garlic. *J. Life Sci*., **21**, 1592-1598 (2011).
8. Bae, S.H., Jung, E.Y., Kim, S.Y., Shin, K.S., Suh, H.J., Antioxidant and immuno-modulating activities of Korean traditional rice wine, takju. *J. Food Biochem*., **34**, 233-248 (2010).
9. Yang, H.S., Eun, J.B., Fermentation and sensory characteristics of Korean traditional fermented liquor (Makgeolli) added with citron (Citrus junos SIEB ex TANAKA) juice. *Korean J. Food Sci. Technol*., **43**, 438-445 (2011).
10. Jeon, M.H., Lee, W.J., Characteristics of blueberry added *Makgeolli*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **40**, 444-449 (2011).
11. Lee, H.H., Kim, I.J., Kang, S.T., Kim, Y.H., Lee, J.O., Ryu, C.H., Development of black garlic Yakju and its antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol*., **42**, 69-74 (2010).
12. Jun, E.B., Choi, M.S., Park, S.Y., Quality characteristics and antioxidant effects on the Korean traditional rice Wine Makgeolli supplemented with *Codium fragile* during fermentation. *Korean J. Fish. Aquat. Sci*., **52**, 224-231 (2019).
13. An, Y.H., Lee, I.S., Kim, H.S., Quality characteristics of *Sikhye* with varied levels of sweet pumpkin during Storage. *Korean J. Food Cookery Sci*., **27**, 803-814 (2011).
14. Kim, E.K., Wu, X., Choi, K.Y., Kim, H.Y., Sensory and microbial characteristics of a rice processed snack using sweet pumpkin powder for infants. *J. Korean Soc. Food Cult*., **33**, 261-267 (2018).
15. Kim, S.R., Ha, T.Y., Song, H.N., Kim, Y.S., Park, Y.K., Comparison of nutritional composition and antioxidative activity for Kabocha squash and pumpkin. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 171-177 (2005).
16. Burton, G.W., Ingold, K.U., β-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, **224**, 569-573 (1984).
17. Mathews-Roth, M.M., Recent progress in the medical applications of carotenoids. *Pure Appl. Chem*., **63**, 147-156 (1991).
18. Lee, G.S., Han, G.P., Quality characteristics of bread supplemented with sweet pumpkin. *Korean J. Food Culture*, **28**, 386-391 (2013).
19. Lee, J.H, Lee, M.K., Quality characteristics of jelly incorporated with sweet pumpkin powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **42** 139-142 (2013).
20. Lee, G.S., Han, G.P., Characteristics of sponge cake prepared by the addition of sweet pumpkin powder. *Korean J. Food Preserv*., **25**, 507-515 (2018).
21. Park, J.H., Choi, J.E., Lee, J.H., Selected physicochemical and consumer preference characteristics of noodles incorporated with sweet pumpkin powder. *J. Korean Soc. Food Nutr*., **44**, 291-295 (2015).
22. Jung, H.A., Kim, A.N., Ahn, E.M., Kim, Y.J., Park, S.H., Lee, J.E., Lee, S.M., Quality characteristics of curd yogurt with sweet pumpkin. *Korean J. Food Preserv*., **18**, 714-720 (2011).
23. Kim, S.Y., Quality characteristics of Makgeolli added with various amounts of pumpkin powder. Master's thesis, Myongji University, Seoul, Korea (2017).
24. Ministry of Food and Drug Safety, (2021, June 2). Statistics of food poisoning. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724&menu_grp=MENU_NEW02
25. Kang, D.H., Park, E.M., Kim, J.H., Yang, J.W., Kim, J.H., Kim, M.Y. Bioactive compounds and antioxidant activity of Jeju Camellia Mistletoe (*Korthalsella japonica Engl*.). *J. Life Sci*., **26**, 1074-1081 (2016).
26. Jeong, Y.S., Jung, H.K., Youn, K.S., Kim, M.O., Hong, J.H. Physiological activities of the hot water extract from *Eriobotrya japonica* Lindl. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **38**, 977-982 (2009).
27. Kim, C.A., Lee, W.G., Lee, I.S., Wang, M.H., Changes of physicochemical, sensory and antioxidant activity characteristics in rice wine, *Yakju* added with different ratios of *Codonopsis lanceolata*. *Korean J. Food Sci. Technol*., **40**, 201- 206 (2008).
28. Park, M.J., Kim, H.K., Choi, K.K., Koo, B.Y., Lee, S.K., Fermentation characteristics of *Makgeolli* containing aronia (*Aronia melanocarpa*, Black chokeberry). *Korean J. Food Sci. Technol*., **48**, 27-35 (2016).
29. Jeong, J.W., Park, K.J., Kim, M.H., Kim, D.S., Quality characteristics of Takju fermentation by addition of chestnut peel powder. *Korean J. Food Preserv*., **13**, 329-336 (2006).
30. Choi, K.W., Lee, J.K., Jo, H.J., Lee, K.J., Yoon, J.A., An, J.H., Chung, K.H., Fermentation characteristics of Makgelli made with loquat fruits (*Eriobotrya japonica Lindley*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **42**, 975-982 (2013).
31. Cho, J.Y., Jo, Y.L., Son, G.H., Kim, S.J., Ma, S.J., Moon, J.H., Park, K.H., Manufacture of green tea-makgeolli and its free radical-scavenging activity. *J. Kor. Tea Soc*., **20**, 71-76 (2014).
32. Kim, S.H., Park, J.M., Yoon, H.S., Song, D.N., Song, I.G., Eom, H.J., Physiological and sensory characteristics of makgeolli with added paprika (*Capsicum annuum L*.). *Korean J. Food Sci. Technol*., **45**, 578-582 (2013).
33. Kim, J.Y., Sung, K.W., Bae, H.W., Yi, Y.H., pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic

characteristics of puffed rice powder added *Takju* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol*., **39**, 266-271 (2007).
34. Lee, H.S., Park, Y.S., Bai, D.H., Quality characteristics of *Makgeolli* (rice wine) fermented with *Koji* by starch types. *Food Eng. Prog*., **18**, 215-221 (2014).
35. Kim, O.S., Park, S.S., Sung, J.M., Antioxidant activity and fermentation characteristics of traditional black rice wine. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **41**, 1693-1700 (2012).
36. Kim, S.G., Kim, E.K., Yoon, S.G., Jo, N.J., Jung, S.K., Kwon, S.H., Chang, Y.H., Jeong, Y.H., Physicochemical and microbial properties of Korean traditional rice wine, Makgeolli, supplemented with cucumber during fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **40**, 223-228 (2011).
37. Rhee, S.J., Lee, J.E., Lee, C.H., Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microb. Cell Fact*., **10**, S5 (2011).
38. Kim, G.M., Jung, W.J., Shin, J.H., Kang, M.J., Sung, N.J., Preparation and quality characteristics of *Makgeolli* made with black garlic extract and *Sulgidduk*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **40**, 759-766 (2011).
39. Que, F., Mao, L, Zhu, C., Xie, G., Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. *LWT Food Sci. Technol*., **39**, 111-117 (2006).
40. Lee, J.B., Park, H.K., Lee, J.S., Kim, M.H., Studies on antioxidant activity, total flavonoids and polyphenols, and reducing power in *Yakju* with different ratios of dandelion root. *J. East Asian Soc. Dietary Life*, **21**, 882-887 (2011).
41. Lee, K.D., Chang, H.K., Kim, H.K., Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushroom. *Korean J. Food Sci. Technol*., **29**, 432-436 (1997).
42. Kim, M.S., Kim, K.M., Han, D.H., Ko, K.W., Kim, S.Y., Antibacterial activity and other functions of *Codium fragile* and *Chaenomeles sinensis* extracts by extraction method. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J*., **33**, 89-94 (2018).
43. Wu, X., Kim, E.K., Choi, K.Y., Kim, H.Y., Antioxidative and physical characteristics of rice germ added sweet pumpkin rice snack for infants. *J. Korean Soc. Food Cult*., **33**, 62-69 (2018).